

谷口啓輔(佐賀県)昭和35年4月8日生

授与年月日 平成3年3月31日

主論文 Methotrexate, Vinblastine,
Doxorubicin, Cis-platin (M-VAC)療法
後の末梢血単核球中のキラー活性の誘導

論文内容の要旨

緒言

多くの抗癌剤が免疫抑制作用を有することはよく知られている。しかしながら、化学療法後の末梢血単核球(PBL)の抗腫瘍効果についての報告は少ない。我々は癌化学療法(M-VAC)後の癌患者の末梢血単核球の抗腫瘍効果を測定し、NK抵抗性腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果(Lymphokine activated killer (LAK)様活性)の著しい上昇を認めたことを報告してきた。今回さらに膀胱腫瘍と腎盂尿管腫瘍患者の癌化学療法(M-VAC)後の癌患者の末梢血単核球の抗腫瘍効果を測定し、LAK様活性とNK活性との間や、それらの活性とリンパ球数との間における関係を調べた。

対象と方法

1986年1月から1990年7月までの間に10名の移行上皮癌患者(膀胱腫瘍6名、腎盂尿管腫瘍4名)に於て調べた。化学療法はSternbergらの方法に準じ、1日目にMethotrexate 30mg/m², 2日目にVinblastine 3mg/m², Doxorubicin 30mg/m², Cis-platinum 70mg/m²を各サイクル(1サイクル28日)ごとに投与した。患者よりヘパリン加末梢血を採取しFicoll-Hypaque遠心法にてPBLを得、患者血清にてCoringしたPlastic Dishに入れ、37°C CO₂ Incubatorにて1時間Incubetし、Adherent cellを除きEffector cellとした。TargetにはNK-resistantである人B細胞リンパ腫のRaji細胞とNK-sensitiveの人赤白血病細胞のK562細胞を用いた。細胞障害試験は18時間の⁵¹Cr放出試験にて行った。% specific lysis (%SL)は%SL=(cpm test-cpm medium)/(cpm MAX-cpm min)×100で計算した。Lytic unitはcytotoxic titration curveを描き、5×10³個のtargetの20%を傷害するのに必要なEffector数を1LUとし、1×10⁷個のEffectorの総LUを計算した。すべての実験はtriplicateにて行い、検定には対応のあるWilcoxon検定を用いた。

結果

患者背景: 38歳から67歳までの移行上皮癌患者10名

(平均59.3歳)、男性9名、女性1名でPaformance statusは2が3名、0が7名であった。

NK及びLAK様活性: NK及びLAK様活性は各サイクルのM-VAC療法が開始されるとともに一過性に減少する。その最小値は1サイクル目でNK活性では264.1±419.9LU(化学療法前値613.6±432.9LU), LAK様活性では21.9±27.8LU(化学療法前値88.6±61.2)。減少した後は急激に上昇に転じ、その最大値はNK活性で970.6±567.4LU, LAK様活性では418.4±177.4LUとなった。NK活性とLAK様活性に於てその前値と最大値との間には有意差が存在し、2, 3サイクルに於いても同様の経過を示した。最小及び最大となるまでの日数は1サイクル目ではNK, LAK様活性の順に記すと7.7±2.9日, 8.4±2.8日と21.5±6.5日, 24.3±6.5日であり、NK活性とLAK様活性との間に有意差はなかったが、若干NK活性の方がLAK様活性に比べ早めに変動する傾向にあった。

M-VAC療法中のリンパ球数の変動: M-VAC療法開始後各サイクルに於いてNK活性とLAK様活性が最小となる間は減少していたが両活性が最大となる間には化学療法前に比べ増加し続けた。しかしその最大値が出現するまでの日数(34.3±9.0)は、NK活性やLAK様活性の最大値が出現するまでの日数に比べ有為差を持って延長していた。

まとめ

①M-VAC化学療法後の移行上皮癌患者10名のK562細胞に対するNK活性とRaji細胞に対するLAK様活性を測定し、同時にリンパ球数の変動を見た。

②各サイクル毎にNK活性, LAK活性, リンパ球数は一過性に減少したのちにM-VAC前値に比べ上昇を示した。

③NK活性及びLAK様活性が最大値となる時期はリンパ球の増殖期に一致していた。

④化学療法は直接の抗腫瘍効果とともに免疫機構の上からも、その作用機序、投与量、投与時期について考慮されるべきかも知れない。

論文審査の結果の要旨

谷口啓輔は、昭和60年3月長崎大学医学部を卒業し、医師国家試験に合格した後、引き続き長崎大学医学部附属病院において2年間の臨床研修を終了後、昭和62年4月長崎大学大学院医学研究科に入学した。

大学院においては、外科系を修め泌尿器科学を主科目とし、所定の単位を取得し、泌尿器科学教室主任齊藤泰教授の指導を受け、学位論文「Methotrexate, Vinblastine, Doxorubicin, Cis-platin (M-VAC)療法後の末梢血単核球中のキラー活性の誘導」を完成して、これを主論文として参考論文2篇を添えて医学研究科委員会に提出した。

医学研究科委員会は、平成3年2月6日の定例委員会において論文内容の要旨を検討し、上記の通り審査委員を選定した。委員は主査を中心として慎重審査の上3月20日の定例委員会でその結果を報告した。

主論文は、尿路上皮腫瘍に対して化学療法を行い、癌患者の末梢血単核球の抗腫瘍汚性を測定し、これらの活性とリンパ球数との間の関係を検討した。対象は膀胱腫瘍6名、腎盂尿管腫瘍4名の計10名、化学療法は1日目にMethotrexate 30mg/m²、2日目にVinblastine 3mg/m²、Doxorubicin 30mg/m²、Cis-platinum 70mg/m²の投与を1コースとし、約28日ごとに3コース投与した。患者末梢血よりFicoll-Hypaque遠心法にてリンパ球を分離し、患者血清をcortingしたプラスチックシャーレに入れ、37°Cで1時間炭酸ガス培養器に放置してadherent cellを除きeffector cellとした。target cellとしては、NK抵抗性のRaji cellとNK感受性のK562細胞を用い、細胞障害試験は18時間の⁵¹Cr放出試験で行った。lytic unitは5×10³個のtarget cellの20%を障害するに必要なeffector数を1LUとし、1×10⁷個のeffectorの総LUを計算した。K562に対する障害活性をNK活性、Raji cellに対する障害活性をLAK様活性とすると、NK活性はM-VAC療法前613.6±432.9 LUであったものが、M-VAC療法後、7.7±2.9日目に264.1±419.9LUに、21.5±6.5日に970.6±567.4LUに上昇した。LAK様活性は、前が88.6±61.2L. Uが8.4±2.8日目に21.9±27.8LUとなり、24.3±6.5日目には418.4±177.4LUと上昇した。化学療法により減少したリンパ球が最大になるのには、34.3±9.0日を要した。以上のように、化学療法によりNK活性、LAK様活性が上昇することが判明し、化学療法剤の投与にこのような免疫機構の考慮が必要であることを発見した。

研究科委員会は審査委員の報告にもとづきこれを討論に付して審議した結果、本論文は医学の進歩に貢献するところ大であって、学位に価するものとして合格と判定した。

審査担当者	主査	教授	斉藤	泰
	副査	教授	板倉	英世
	副査	教授	朝長	万左男